UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER - TOULOUSE

UNITÉS MÉDICALES

ANNÉE 1970 N° 181

VALEUR DU DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DE LA DISTOMATOSE HÉPATIQUE PAR LES MÉTHODES D'IMMUNOFLUORESCENCE ET DE FIXATION DU COMPLÉMENT

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine
(DIPLOME D'ETAT)

par

Marc LARROUY
Ancien Externe des Hôpitaux

Membres du Jury

M.	MONNIER	Président
Mme	LARENG	Assesseurs
MM.	LARROUY	
	BRIZARD	
	SEGUELA	Suppléant

CENTRE D'ÉDITION DE LA FÉDÉRATION DES ÉTUDIANTS DU CORPS DE SANTÉ
Chirurgie Dentaire (A. C. E. C. D. T.) — Médecine (A. C. E. M. T.) — Pharmacie (A. E. P. T.)
22, rue Croix-Baragnon - TOULOUSE - Siège Social : 20, rue Ozenne - Tél. 52.79.98 - C. C. P. Toulouse 956.31

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543906_0009

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER - TOULOUSE

UNITÉS MÉDICALES

ANNÉE 1970 N° 181

VALEUR DU DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DE LA DISTOMATOSE HÉPATIQUE PAR LES MÉTHODES D'IMMUNOFLUORESCENCE ET DE FIXATION DU COMPLÉMENT

THÈSE

pour le Doctorat en Médecine
(DIPLOME D'ETAT)

par

Marc LARROUY
Ancien Externe des Hôpitaux

Membres du Jury

M.	MONNIER	Président
Mme	LARENG	Assesseurs
MM.	LARROUY	Assesseurs
	BRIZARD	Assesseurs
	SEGUELA	Suppléant

CENTRE D'ÉDITION DE LA FÉDÉRATION DES ÉTUDIANTS DU CORPS DE SANTÉ
Chirurgie Dentaire (A. C. E. C. D. T.) — Médecine (A. C. E. M. T.) — Pharmacie (A. E. P. T.)
22, rue Croix-Baragnon - TOULOUSE - Siège Social : 20, rue Ozenne - Tél. 52.79.98 - C. C. P. Toulouse 956.31

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PAUL SABATIER
118, Route de Narbonne
31 - TOULOUSE

-:-:-:-

T A B L E A U D U P E R S O N N E L

UNITES MEDICALES

Président de l'Université : Monsieur LARENG

Ier Vice-Président : Monsieur MATHIS

Directeur de l'Unité de Sciences Médicales : Monsieur MONNIER
TOULOUSE-PURPAN

Directeur de l'Unité de Sciences Médicales : Monsieur ENJALBERT
TOULOUSE-RANGUEIL

Doyens honoraires : MM. LAZORTHES, GORSE, CALVET, BRUSTIER

Professeurs honoraires : MM. VALLOIS, TAPIE, DELAS, RISER, BUGNARD, VINCENT, MOREL, BOUISSET, CALMETTES, THOMAS, LAGROT, DULUCQ

-:-:-:-

linique Médicale et Cardiologique	MM. DARDENNE
linique Médicale Sud	GADRAT
linique Chirurgicale	FICAT
linique Chirurgicale A et Gynécologie	POULHES
linique Chirurgicale B et du Cancer	GRIMOUD
linique Chirurgicale infantile et orthopédie	PASQUIE
linique Chirurgicale orthopédique et traumatologique	RIEUNAU
linique de Chirurgie cardio-vasculaire	ENJALBERT
linique des maladies cutanées et syphilitiques	BAZEX
linique des maladies des voies urinaires	LHEZ
linique des maladies infectieuses	ARMENGAUD Max.
linique médicale infantile et puériculture	SOREL
linique médicale de la première enfance	BARDIER
linique de neuro-chirurgie	LAZORTHES G.
linique neurologique et psychiatrique	GERAUD
linique obstétricale	PONTONNIER
linique odonto-stomatologique	CADENAT

Clinique ophtalmologique	MM.	N.....
Clinique O.R.L. et Chirurgie maxillo-faciale		CALVET
Clinique de pneumo-phtisiologie		DELAUDE
Clinique rhumatologique		RUFFIE René
Accouchement et obstétricie sociale		MONROZIES
Anatomie		BASTIDE
Anatomie pathologique		FABRE Jacques
Anesthésie et Réanimation		LARENG Louis
Bactériologie et Virologie	Mme	ENJALBERT
Biophysique médicale A		AUVERGNAT
Biophysique médicale B		BRU
Chimie biologique		VALDIGUIE Paul
Electro-Radiologie		MARQUES
Embryologie générale		BROUSSY Jean
Hématologie		RUFFIE Jacques
Histologie		BIMES
Hydrologie, Thérapeutique et Climatologie		N.....
Cardiologie clinique et expérimentale		N.....
Hygiène et médecine sociale		MONNIER
Immunologie		DUCOS
Médecine légale et médecine du travail		PLANQUES
Pathologie chirurgicale		DAMBRIN
Pathologie générale et médecine expérimentale		SENDRAIL
Pathologie médicale		RIBAUT
Physiologie		LAPORTE Yves
Physiologie appliquée et pharmacologie		BAISSET
Sémiologie et clinique médicale		LAPORTE Jacques
Thérapeutique		DARNAUD

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Histologie et Embryologie	MM.	GUILHEM
Anatomie pathologique		BOUISSOU
Biochimie médicale		DOUSTE-BLAZY
Histologie et Embryologie		PLANEL
Oto-Rhino-Laryngologie		CLAUX
Pathologie Médicale		BOULARD
Physiologie		MONTASTRUC
Physiologie		BESSOU
Physique médicale		COMMANAY
Pneumo-Phtisiologie		MIGUERES

PROFESSEURS SANS CHAIRE

- Anatomie pathologique	MM.	FABRE Jean
- Bactériologie, parasitologie, virologie	Mme	LARENG M.B.
- Biochimie médicale		VALDIGUIE Pierre
- Chirurgie générale		GEDEON
- Chirurgie générale		SARRAZIN
- Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire		ESCHAPASSE
- Electro-radiologie		PONS
- Electro-radiologie		ROULLEAU
- Médecine générale et thérapeutique		BOLLINELLI
- Ophtalmologie		DEODATI
- Pédiatrie		DALOUS
- Neuro-chirurgie		ESPAGNO Jacques
- Médecine générale et thérapeutique		SUC
- Pédiatrie		REGNIER
- Médecine générale		RIBET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

- Carcinologie	MM.	ESTRADE
- Médecine générale et thérapeutique		BES
- Pathologie expérimentale		GLEIZES
- Médecine générale		ARLET Jacques
- Dermatologie, Vénéréologie		DUPRE
- Thérapeutique		DENARD
- Physiologie		GERAL J. Pierre
- Cardiologie		BOUNHOURE
- Thérapeutique, Réanimation médicale, Rééducation fonctionnelle et Hydrologie		SALVADOR
- Radiologie		COMBES Pierre
- Pneumo-Phtisiologie		ALBAREDE J.L.
- Pédiatrie génétique médicale		ROCHICCIOLI P.
- Chirurgie générale		ESCAT Jean
- Chirurgie générale		COSTAGLIOLA
- Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique et reconstructive		UTHEZA Guy
- Urologie		PONTONNIER F.
- Histologie, Embryologie, Cytogénétique		SOLEILHAVOUP
- Biophysique		GUIRAUD Robert
- Physiologie		PAGES Bernard
- Parasitologie		LARROUY
- Immunologie, Hématologie, Maladies du sang		BIERME Robert
- Anatomie et organogénèse		JUSKIEWENSKI S.
- Médecine interne		FEDOU Robert
- Médecine générale		RASCOL

AGREGES

- Médecine générale	MM.	CALAZEL
- Médecine générale		LE TALLEC
- Chirurgie générale		GAUBERT
- Médecine légale		GREZES-RUEFF
- Neurologie et Psychiatrie		GAYRAL
- Ophtalmologie		BEC

AGREGES LIBRES

- Chirurgie générale	MM.	SOUQUET
- Pathologie chirurgicale		DIEULAFE
- Obstétrique		ESPAGNO G.

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

- Psychiatrie	M.	LABOUCARIE

Secrétaire Général de l'Université : Monsieur PRINEAU J.P.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats (délibération en date du 12 Mai 1891).

-:-:-:-:-:-:-:-

A MES PARENTS

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A notre Président de Thèse

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. MONNIER

Professeur d'Hygiène et de Médecine Sociale
Médecin des Hôpitaux.

Vous nous faites le grand honneur de présider notre Jury de Thèse.

Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance.

A notre Jury de Thèse

A MADAME LE PROFESSEUR M.B. LARENG

Professeur Agrégé de Bactériologie Virologie.
Biologiste des Hôpitaux.

Vous nous avez donné la grande joie de participer à ce Jury de Thèse.

Veuillez croire à nos plus sincères remerciements.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. LARROUY

Maître de Conférence Agrégé de Parasitologie
Biologiste des Hôpitaux.

Vous nous avez témoigné votre confiance en nous réservant un accueil bienveillant dans votre laboratoire.

Soyez assuré de toute notre gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRIZARD

Professeur de Parasitologie à l'Ecole Vétérinaire

Vous nous avez assuré l'entière collaboration de votre laboratoire.

Nous sommes heureux de vous présenter ici tous nos remerciements.

A MONSIEUR J.P. SEGUELA

Chef de Travaux à la Faculté
Biologiste des Hôpitaux

Vous nous avez témoigné de l'intérêt en nous incitant à entreprendre ce travail. Vos connaissances et votre expérience ont rendu possible sa réalisation.

Veuillez trouver ici toute notre reconnaissance.

A MONSIEUR DORCHIES

Chef de Travaux de Parasitologie à l'Ecole Vétérinaire.

Vous avez bien voulu vous intéresser personnellement à la réalisation de ce travail.

Soyez assuré de notre profonde reconnaissance.

AU LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE

Monsieur A. Accurso, étudiant hospitalier.

Monsieur Anglade

Monsieur Baille

Monsieur Carré, Attaché des Hôpitaux

Monsieur Duclos, Technicien de Laboratoire

Madame François

Madame Ivarnez

Madame Lafaille

Mademoiselle Lecoq, Assistante de Parasitologie à la Faculté

Mademoiselle Lestortes

Monsieur Sauriac

Monsieur Soula, Assistant de Faculté, Assistant des Hôpitaux

Monsieur Thuries.

Nous vous remercions pour votre aide.

A MONSIEUR LE DOCTEUR MONTALEBRE

Chef de Service au C.R.T.S.

Vous nous avez procuré les sérums pour notre enquête. Acceptez nos remerciements.

A TOUS LE PERSONNEL DES EQUIPES MOBILES

DU CENTRE REGIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE

DE TOULOUSE.

S O M M A I R E

INTRODUCTION

CHAPITRE I - LE PARASITE ET LA MALADIE

- L'agent pathogène : Fasciola hépatica
- La maladie : La Distomatose
  - épidémiologie
  - clinique et physiopathologie
  - biologie et diagnostic biologique
  - diagnostic différentiel
  - traitement
  - prophylaxie.

CHAPITRE II - RAPPEL IMMUNOLOGIQUE

- L'immunité dans les maladies parasitaires
- Immunologie distomienne
  - considérations sur l'antigène distomien
  - les anticorps testés

SCHEMAS GENERAUX DES METHODES D'IMMUNOFLUORESCENCE ET DE FIXATION DU COMPLEMENT ADAPTEES A LA DISTOMATOSE.

- Méthode d'immunofluorescence
- Méthode de fixation du complément

CHAPITRE III - NOTRE ETUDE SEROLOGIQUE

- Sérums de donneurs
- Sérums de sujets suspects de distomatose
  - les sérums de malade
  - 2 observations de distomiens : énoncé et commentaire
  - les sérums animaux.

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Pressentie il y a quelques années comme devant être une maladie d'avenir, la distomatose à Fasciola hépatica a largement réalisé ces prédictions et rien ne semble devoir freiner l'ascension de cette Parasitose en France en particulier.

Cette ascension s'explique tant par l'amélioration du dépistage clinique et biologique que par l'apparition de modifications épidémiologiques que nous verrons plus loin.

Signalée sur tous les continents, la Distomatose hépatique sévit particulièrement en France, classiquement dans les régions d'élevage, en fait sur tout le territoire. Avant de développer l'étude purement sérologique, il nous semble nécessaire de décrire très brièvement le parasite responsable de la Distomatose hépatique en France, ainsi que la Distomatose maladie sous ses aspects clinique, épidémiologique, et biologique.

C H A P I T R E P R E M I E R

LE PARASITE

ET

LA MALADIE

I - L'AGENT PATHOGENE : Fasciola hépatica

Il appartient à la famille des Plathelmintes et au groupe des Trématodes. C'est un endo-parasite.

A) Morphologie :

C'est un ver plat foliacé ayant l'aspect d'une feuille brunâtre de 20 mm de long et de 10 mm de large à l'état adulte. Il est hermaphrodite.

B) Biologie :

Ce sont des parasites hématophages.

Le développement complet des Fasciola exige le parcours d'un cycle complexe comprenant toujours un mollusque, hôte intermédiaire, et un vertébré, hôte définitif.

Cycle de Fasciola hépatica (31) :

A l'état adulte, la grande douve vit dans les canaux biliaires des ruminants,des animaux domestiques et de l'homme. Après l'accouplement, la douve pond des oeufs embryonnés ou non qui arrivent dans l'intestin par les canaux biliaires et sont évacués par les selles. Ces oeufs se développent à condition qu'ils arrivent dans l'eau et que la température soit favorable (23° à 26°). Ils donnent alors naissance à des larves dites Miracidium. Le Miracidium va parasiter la chambre pulmonaire de la Limnée et donner là une masse kystique appelée Sporocyste. Puis, se succèdent d'autres formes embryonnaires : Rédies (stade qui a migré dans l'hépato-pancréas de la Limnée), Cercaires (embryons pondus par la Rédie et qui se trouventà l'état libre dans l'eau), Métacercaires (forme enkystée du cercaire fixée sur une plante aquatique, le cresson par exemple, ou immobile au fond de l'eau). La Métacercaire est la forme infestante pour les mammifères. Ingérée, la jeune douve va traverser la paroi digestive au niveau de l'intestin grêle, se retrouver dans la cavité péritonéale en quelques heures, puis remonter au foie en 4 à 14 jours pour se loger dans les canaux biliaires. Le passage dans le foie se fait par effraction de la capsule de Glisson. Au niveau des canaux biliaires, la douve va arriver à maturité sexuelle et après accouplement il y aura ponte des oeufs qui vont être évacués dans la nature, le cycle étant ainsi bouclé. Les Douves adultes peuvent vivre plusieurs années (plus de 10 ans).

Il existe cependant des formes dites erratiques c'est-à-dire que la douve a migré dans des tissus autres que le foie et, dans ces cas précis, il faut signaler que le parasite arrive rarement à maturité. Ces formes sont cependant très rares.

II - LA MALADIE : La DISTOMATOSE

Pour la décrire, nous utiliserons le plan classique, c'est-à-dire :

- Epidémiologie
- Clinique et physiopathologie
- Biologie et diagnostic biologique
- Traitement
- Prophylaxie.

A) Epidémiologie : (24-25-38-40)

Le réservoir de virus est constitué par le cheptel bovin et ovin. Le taux d'infestation de ces animaux peut être très élevé, pour la région toulousaine, il est de 50 % pour les bovins et de 10 % pour les ovins.

Le mode de contamination pour l'homme est parfaitement connu. Le sujet sain s'infeste le plus souvent en été ou en automne en ingérant la forme embryonnaire Métacercaire qui souille des plantes consommées crues. Il peut s'agir, en premier lieu, du cresson de fontaines en distinguant d'abord le cresson sauvage responsable de cas isolés familiaux, du cresson de culture (contaminé par les eaux ou le fumier) à l'origine d'épidémies parfois massives. On peut ensuite incriminer le pissenlit poussant en terres innondables et les cueillettes maraîchères : salades, radis souillés par l'irrigation ou le fumier. Lorsque aucune ingestion de crudité ne peut être retrouvée, on doit conclure à une contamination directe par ingestion d'eau où se trouvaient des Métacercaires libres.

La distomatose hépatique représente une parasitose d'actualité car :

- sa fréquence paraît croissante
- son territoire géographique s'étend des régions à grand cheptel à l'ensemble des zones rurales.

Cette augmentation s'explique sur le plan épidémiologique par l'apparition dans ces dernières années de nouvelles conditions socio-économiques, telles que :

- l'augmentation du cheptel bovin et ovin réservoir de virus, dû à l'accroissement de la consommation de viande

- la fréquentation de plus en plus élevée des campagnes en été et en automne par les citadins amateurs de grand air et de crudités

- l'augmentation de la consommation de cresson

- la difficulté de pratiquer une prophylaxie efficace.

B) Clinique et Physiopathologie (29-31)

Pour comprendre les signes cliniques, il faut suivre l'évolution biologique du parasite chez l'homme (cf cycle). La maladie évolue en quatre phases après l'ingestion de Métacercaires.

1 - La période d'invasion : Elle correspond à la phase de migration de la jeune douve. Elle survient 5 à 10 jours après l'ingestion. Elle est marquée par :

- une baisse de l'état général
- des douleurs prédominant à l'hypocondre droit
- des signes physiques, d'ordre allergique tels que des poussées d'urticaire ou un simple prurit.

2 - La phase de début ou phase d'angiocholite aiguë apparaît en 4 à 5 semaines ; elle correspond à la localisation de la douve dans le parenchyme hépatique. Elle traduit l'inflammation du tissu hépatique et sa nécrose. Elle est caractérisée par :

- une altération plus importante de l'état général

- des signes allergiques (myalgies, tachycardie, prurit, urticaire)

- des signes fonctionnels hépatiques : douleurs et pesanteurs de l'hypocondre droit.

- des signes physiques : subictère et hépatomégalie sont retrouvés à l'examen. Un épanchement pleural est aussi souvent noté à ce stade.

3 - Phase d'état ou phase d'angiocholite chronique : elle apparaît au cours du 3e ou 4e mois. Elle correspond à une migration des douves dans les canalicules biliaires. Elle se traduit par :

- des signes généraux de plus en plus marqués : asthénie plus importante, anorexie, amaigrissement.

- des signes fonctionnels : des migraines essentiellement.

- des signes physiques à type d'ictère rétentionnel.

4 - Evolution : Non traitée, elle se fait, le plus souvent, de façon désespérément chronique pendant plusieurs mois. En cas d'infestation massive, on voit l'augmentation des signes de déficience hépatique, l'évolution se fait à grands pas vers la cirrhose. Pour une infestation légère, la guérison spontanée peut se voir, mais au prix de séquelles définitives au niveau du foie.

Traitée, l'évolution n'est favorable que si le traitement a lieu à la phase d'invasion. Par la suite, le traitement peut détruire les parasites, mais il y aura toujours des séquelles hépatiques.

Formes cliniques : sont caractéristiques :

- les formes erratiques sous-cutanées ou pulmonaires.

- les formes compliquées par un ictère grave ou une cirrhose.

C) Biologie et diagnostic biologique (1-5-11-12-16-28-29-32-34-42)

Devant des signes cliniques évocateurs de Distomatose, c'est par l'interprétation de résultats biologiques que le médecin pourra affirmer son diagnostic.

Pour chacun des différents stades de la maladie, il existe divers examens qui pourront orienter ou affirmer le diagnostic.

Examens d'orientation :

- la formule sanguine avec une hyperéosinophilie.

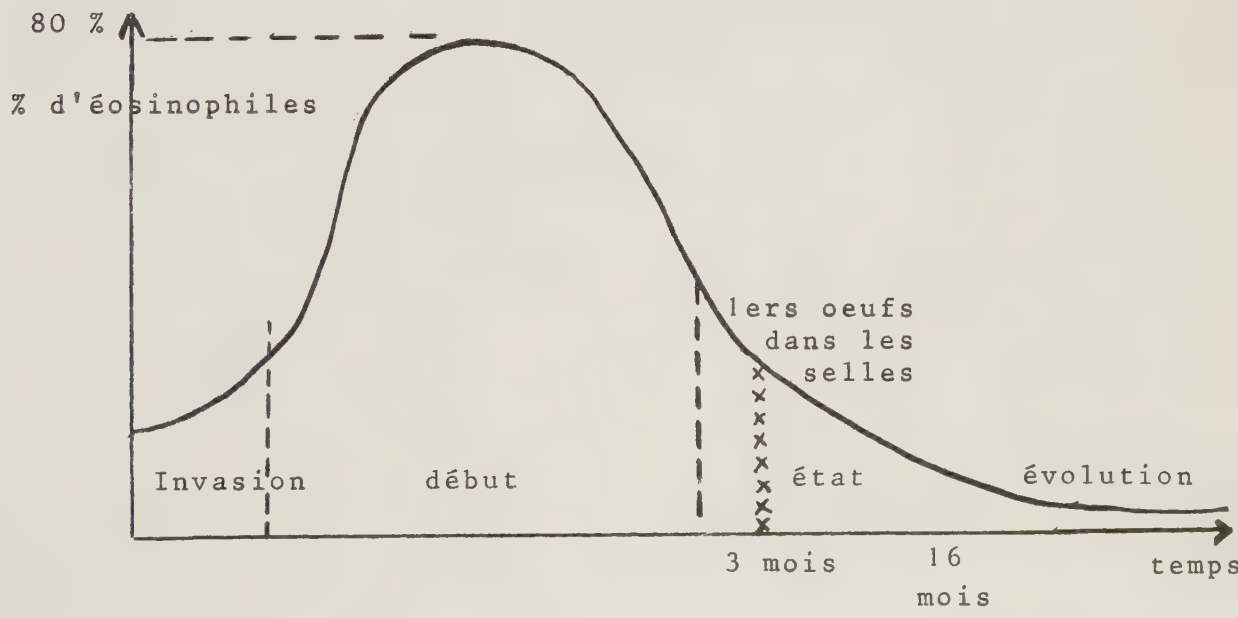
- la vitesse de sédimentation augmentée.
- les tests hépatiques de floculation.
- l'électrophorèse avec l'augmentation des globulines.

Examens spécifiques :

- l'intradermoréaction positive au bout de deux mois si elle est faite avec un antigène convenable.
- la réaction de déviation du complément positive dès la phase d'invasion.
- la recherche des oeufs dans les selles et par tubage duodénal positive au bout du 3e ou 4e mois.
- l'immunofluorescence à l'antigène distomien.
- l'immunoélectrophorèse.

L'étude de la réaction de déviation du complément et celle de l'immunofluorescence sera faite plus loin dans un chapitre spécial. Nous commenterons maintenant 3 examens biologiques qui, à des stades divers de la maladie, peuvent orienter ou affirmer le diagnostic. Ce seront l'hyperéosinophilie, l'intradermoréaction à l'antigène distomien et la recherche des oeufs dans les selles.

1) L'hyperéosinophilie : la courbe des éosinophiles circulants va décrire un tracé classique connu sous le nom de courbe en archet de Lavier (cf schéma).



Le taux est de 30 à 40 % dans la phase de début et atteints un maximum de 70 à 80 % vers le 3e mois de l'infestation. Il chute ensuite très rapidement dans les mois qui suivent. C'est incontestablement l'hyperéosinophilie sanguine qui est la 1ère étape vers le diagnostic. La distomatose est pratiquement dans nos régions la seule parasitose capable d'entraîner une éosinophilie aussi élevée. Nous évoquerons, cependant, en détail, au chapitre du diagnostic différentiel, toutes les causes d'hyperéosinophilie susceptibles d'être rencontrées en France. Signalons qu'il n'a jamais été retrouvé de relations entre le taux d'éosinophiles circulants et l'importance des signes cliniques, pas plus qu'entre le taux d'éosinophiles et l'importance des réactions immunologiques. Il semble bien que le % des éosinophiles ne mesure pas la densité parasitaire, mais constitue une réaction allergique pour chaque parasite.

2) L'étude coprologique et du tubage duodénal : Si la rencontre d'une hyperéosinophilie est un bon signe d'orientation, la découverte d'oeufs dans les selles est un signe d'absolue certitude de distomatose hépatique. Ceci, à la condition que l'oeuf soit normal (grand oeuf à clapet ovoïde, jaune très clair). En effet, il est possible de trouver chez un sujet parfaitement sain des oeufs morts appelés oeufs de transit (oeufs avec gaz dans la coque et embryon rétracté) ; la présence de ces oeufs de transit s'explique par le fait que le sujet a ingéré la veille de l'examen coprologique du foie de boeuf contaminé.

Rappelons que les oeufs de grande douve ne peuvent être découverts dans les selles que vers le 3e ou 4e mois, dès que la maturation et l'accouplement se seront produits dans les canalicules biliaires.

Selon une étude d'Ambroise Thomas (1), les oeufs de Fasciola hépatica ne sont retrouvés dans les selles ou dans le liquide duodénal que dans 10 % des cas où la distomatose était déjà établie. Giraudet(28) affirme que sur 50 distomiens avérés seuls, 12 présentaient des oeufs dans leurs selles. Ces deux auteurs donnent des explications complémentaires à ce phénomène. Ambroise Thomas rappelle l'adaptation imparfaite de Fasciola hépatica au parasitisme humain ; il explique ainsi que l'infection est généralement pauci-parasitaire et que, dans un grand nombre de cas, le développement des douves est incomplet, la plupart des vers n'arrivant pas à maturité sexuelle. Giraudet note que la plupart de ses malades ont été reçu à la phase d'invasion avant la phase d'infestation biliaire et ce n'est évidemment qu'à ce dernier stade que les oeufs de grande douve peuvent exister dans les selles.

	Début invasion	Etat (3e mois)	Evolution 15e mois
Hyperéosinophilie	++++	+++	+ ou -
Vitesse de sédimenta	+++	++	+
Tests hépatiques	-	+++	++++
Augmentation des globulines sériques	+++	+++	-
I.D.R.[1]	- puis + au 2e mois	+	+
R.D.C.[2]	+	++	++
Oeufs ds selles	-	+	+
I.M.F.[3]	+	++	++
I.M.E.[4]	+	++	++

1 - I.D.R. : Intradermoréaction

2 - R.D.C. : Réaction de déviation du complément

3 - I.M.F. : Immunofluorescence

4 - I.M.E. : Immunoélectrophorèse.

L'intérêt diagnostic de cet examen se trouve donc diminué et par ces considérations statistiques et par le fait qu'il ne fournit qu'un diagnostic tardif. Ceci renforce la valeur diagnostique de l'étude sérologique qui pourra renseigner le praticien dès la phase d'invasion. L'examen coprologique reste cependant intéressant pour la preuve absolue du diagnostic qu'il peut nous fournir et pour la surveillance de l'efficacité du traitement ; la stérilisation des selles après le traitement est, en effet, un bon critère de guérison chez un sujet qui présentait des oeufs dans ses selles.

3) L'intradermoréaction à l'antigène distomien (45). Cette réaction ne devient positive qu'au bout du 3e mois. Nous nous rapporterons pour développer ce chapitre aux travaux de Pautrizel. Les intradermoréactions sont pratiquées par cet auteur à l'aide d'un antigène distomien délipidé dans des conditions standardisées. Il est toujours pratiqué une injection témoin d'eau physiologique. La lecture se fait 1/4 d'heure après, l'intensité de la réaction est mesurée par la surface de la papule oedémateuse ; pour considérer le résultat comme positif,il faut une surface supérieure ou égale à 1 cm carré pour les femmes et à 1,3 cm carré pour les hommes ; en effet, la réactivité des hommes est apparue supérieure à celle des femmes. Dans ces conditions, chez des distomiens biologiquement confirmés, Pautrizel a obtenu 58 % de réponses positives chez les femmes et 69 % chez les hommes. Cette méthode est intéressante pour le clinicien parce que relativement simple. Il ne faut cependant jamais la faire avant l'étude sérologique qui serait alors rendue positive à tord. Un autre inconvénient est dû au fait que l'antigène manque de spécificité ; ainsi, un distomien non encore biologiquement confirmé peut présenter une positivité aux intradermoréactions à l'antigène bilharzien ou hydatique. Pour éviter toute confusion de diagnostic, il faudra toujours faire appel aux réactions sérologiques spécifiques.

Pour conclure ce chapitre biologique, nous donnerons un tableau récapitulatif de la biologie de la distomatose à ses différents stades :

D) Le diagnostic différentiel (31)

1) Clinique :

La distomatose prenant les masques les plus trompeurs, son diagnostic clinique sera pratiquement toujours difficile.

Il se posera, d'une manière générale, avec toutes les variétés d'hépatites toxi-infectieuses ou d'angiocholites de causes multiples et il sera alors singulièrement complexe. Il se posera aussi, en particulier, dans ses formes atypiques avec toute une série d'affections telles que la fièvre typhoïde, le paludisme, les brucelloses sans compter la lithiase biliaire avec laquelle, par surcroît, des associations sont possibles.

2) Biologique :

Il s'agit essentiellement du diagnostic des hyperéosinophilies. En pratique, devant toute éosinophilie massive persistante, retentissant sur l'état général, il faut passer en revue l'ensemble des grands syndromes éosinophiliques.

La 2e grande cause d'éosinophilie massive persistante est la périartérite noueuse ; il faudra savoir l'évoquer devant un asthme rebelle associé à des complications viscérales (atteintes rénales, cardiaques, nerveuses), son diagnostic sera fait par la biopsie d'un élément cutané.

Les maladies parasitaires sont nombreuses à donner des hyperéosinophilies ; nous citerons uniquement les maladies parasitaires métropolitaines amenant un taux élevé d'éosinophiles circulants. Tout d'abord, il nous faut éliminer la distomatose hépatique due à Dicrocoelium dentriticum ou petite douve ; l'hyperéosinophilie y décrit exactement la courbe de Lavier et le diagnostic étiologique, s'il est fait, ne le sera que par la découverte d'oeufs spécifiques dans les selles.

Il s'agit ensuite de syndromes hyperéosinophiliques dus à la migration des larves de certains Nématodes (Ascaris, Ancylostome, Anguillule, Trichine) ; ces quatre affections se différencient très bien de la distomatose par des signes cliniques qui leur sont propres.

E) Le traitement (31-28)

De la précocité de celui-ci dépend le pronostic de la distomatose. A la phase de début, il entraîne le plus souvent la guérison sans séquelles. Par la suite, le pronostic sera subordonné à l'importance de l'atteinte des voies biliaires. Les médications utilisées sont :

- la déhydroémétine : c'est le médicament de base à employer suivant les règles habituelles (dose de 0,04 g par jour en sous-cutané ou per os ; la dose totale pour une série est de 1 cg par kg de poids ; la cure dure 10 à 20 jours et il faut attendre au moins 45 jours avant d'en refaire une seconde) ; ce traitement se fait à l'hôpital en raison de la grande toxicité du produit. Il existe, en effet, des risques myocardiques et nerveux, la surveillance du pouls de la tension artérielle et des réflexes s'impose donc. La déhydroémétine est très active en début de maladie ; elle peut cependant être responsable d'échecs thérapeutiques à la phase d'état.

- la phénantroline-quinone ou Entobex : pour les auteurs lyonnais, son action serait supérieure à l'émétine.La cure dure 15 jours, la dose journalière est de 8 à 10 dragées par jour ; cette cure se fait, soit d'emblée, soit après un traitement à l'émétine. On peut prescrire plusieurs cures. Bien tolérée en général, elle peut provoquer des nausées et des vomissements qui disparaissent après administration de parasympathycolytiques.

- les Antimoniés (Glucantine) : utilisée à la dose de 0,10 g par kg de poids, pendant 10 jours, il faut respecter entre chaque cure un délai de 45 jours.

F) Prophylaxie (40)

La prophylaxie de la distomatose devrait logiquement découler des données épidémiologiques et envisager successivement :

- la lutte contre les réservoirs de virus
- la lutte contre les vecteurs de parasites
- la lutte contre la contamination.

Elle se bornera, en réalité, à la réglementation et à l'éducation sanitaire.

a) La lutte contre les réservoirs de virus animaux se heurte à des difficultés pratiques.

En effet, si le dépistage est possible chez l'homme, grâce à l'hémogramme et aux réactions allergiques ou sérologiques, il est irréalisable chez l'animal pour des raisons financières.

Le traitement des animaux doit donc être systématique et devrait comprendre trois cures (printemps, été, automne) de térébenthinobenzol ou de tétrachlorure de carbonne ; en fait, une seule cure est pratiquée car le prix de revient est élevé.

L'action sur les réservoirs de virus animaux est donc très limitée, ce qui laisse prévoir la recrudescence et l'extension de la distomatose animale.

b) La lutte contre les véhicules de parasites constitue un objectif très séduisant mais inaccessible. On pourrait créer des conditions de vie impropres au développement des mollusques :

- drainage des zones humides : assèchement des sols
- enfouissement par labourage profond
- molluscocides
- développement de grenouilles, de crapauds et canards déprédateurs de limnées
- pacage à rotation biennale.

c) La lutte contre la contamination humaine demeure la seule voie de la prévention. On distinguera une prophylaxie individuelle et une collective. L'individuelle consistera à se mettre à l'abri de la contamination, c'est-à-dire à éviter l'ingestion d'eau souillée, de pissenlits des champs, de plantes aquatiques (telles que le cresson sauvage) porteuses des métacercaires de grandes douves (en Europe). La prophylaxie collective est en fait un problème d'éducation sanitaire : interdiction de fumer les cressonnières avec du fumier animal, destruction des hôtes intermédiaires, utilisation hygiénique des pâturages et traitement des malades hommes ou animaux.

C H A P I T R E S E C O N D

RAPPEL IMMUNOLOGIQUE

SCHEMAS GENERAUX DES METHODES D'IMMUNO-FLUORESCENCE ET DE FIXATION DU COMPLEMENT ADAPTEES A LA DISTOMATOSE

RAPPEL IMMUNOLOGIQUE

1°) L'immunité dans les maladies parasitaires (23)

L'immunité dans les infestations parasitaires n'est pas essentiellement différente de l'immunité dans les infections bactériennes ou dans les infections virales, mais néanmoins, elle présente des modalités particulières qui l'individualisent, et qui lui donnent un certain caractère paradoxal.

L'immunité dans les infestations parasitaires est un état de prémunition. Ceci signifie qu'il n'y a état d'immunité chez un sujet infesté par un parasite que dans la mesure où il y a persistance du parasite dans l'organisme.

Les parasites se localisent en des points définis, leur nombre est réduit et c'est la présence de ces foyers de parasites dans les tissus qui crée l'état d'immunité par la diffusion régulière de substances toxiques parasitaires qui déterminent la formation d'anticorps compensateurs.

Ainsi, se réalise un état d'équilibre entre le parasite et le sujet parasité qui constitue la prémunition des infestations parasitaires.

Deux notions importantes

- Le peu de virulence des parasites et leur petit nombre explique que la quantité d'anticorps soit relativement faible par rapport aux infections bactériennes.

- L'état de prémunition implique qu'après la destruction des parasites, le taux des anticorps va chuter assez vite et qu'il est possible de retrouver, plus tard, chez un sujet guéri la même parasitose.

2°) Immunologie distomienne

A/ Considérations sur l'antigène distomien

I - En immunofluorescence (1) (6) (13) :

Les Lyonnais avec AMBROISE THOMAS ont particulièrement étudié les problèmes antigéniques posés par Fasciola hépatica pour la réaction d'immunofluorescence.

a) Localisation in situ des antigènes de Fasciola hépatica :

Dans les cas de réactions d'immunofluorescence positive, on observe une fluorescence jaune verte au niveau de la cuticule des vers et de la paroi utérine ainsi qu'à l'intérieur des coeca digestifs qui sont très ramifiés chez Fasciola hépatica. En revanche, aucune fluorescence spécifique n'apparaît au niveau de l'appareil génital mâle et au niveau des ventouses. Enfin, comme dans le cas de Schistosoma mansoni, les granules vitellogènes et la coque des oeufs présentent une intense coloration jaune, non spécifique. Toute ceci correspond aux observations de Thorpe. En ce qui concerne la fluorescence observée au niveau des coeca digestifs, il est possible qu'elle corresponde au moins en partie, non pas à des antigènes spécifiques, mais à des protéines venant de l'hôte. En effet, Capron a obtenu une diminution ou même une disparition de la fluorescence observée à ce niveau en traitant des coupes de douves recueillies sur foie de boeuf par des immuns sérums humains préalablement absorbés par de la poudre de foie de boeuf.

b) Comparaison des antigènes de Fasciola hépatica à ceux d'autres douves.

Les sérums de malades porteurs de Clonorchis sinensis, Fasciola hépatica, Fasciola gigantica ont été confrontés par l'immunofluorescence à 2 antigènes (ceux de Fasciola hépatica et de Dicrocoelium dentriticum). AMBROISE THOMAS a conclu à la lecture de ces tests qu'il n'existe que des rapports antigéniques très faibles entre Fasciola hépatica, Clonorchis sinensis, Dicrocoelium dendriticum, alors que Fasciola hépatica est antigéniquement très proche de Fasciola gigantica. Ceci rejoint les résultats obtenus en immunoélectrophorèse par Biguet en 1962.

c) Influence de la quantité d'antigène sur la sensibilité de la réaction d'immunofluorescence :

Au cours de la mise au point de sa méthode, AMBROISE THOMAS fût étonné de constater que dans le cas de la distomatose, l'immunofluorescence paraissait moins sensible que la

réaction de déviation du complément. Il attribua ceci à un excès d'antigène et le démontra par diverses expériences. Il fut ainsi amené à employer comme antigène figuré des coupes pratiquées dans un fragment de douve de 1 à 2 mm de large, inclus dans du muscle strié de cobaye.

Cette inclusion dans du muscle strié nous a paru techniquement délicate ; d'autre part, il nous a été relativement facile d'obtenir des coupe de 2 à 3 mm de diamètre d'antigène distomien "pur". Nous avons alors testé la sensibilité de la réaction simultanément sur des coupes pures et sur les coupes de douves incluses dans du muscle strié. 10 sérums (comprenant des négatifs et des positifs) ont été ainsi analysés. Les résultats n'ont montré aucune différence de sensibilité (cf tableau) entre ces deux types de préparation antigéniques.

TABLEAU COMPARATIF

n° sérums	1/20°		1/40°		1/80°		1/160°	
	d.pure*	d.incl.*	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
1	+	+	-	-	-	-	-	-
2	+	+	+	+	-	-	-	-
3	+++	+++	++	++	++	++	+	+
4	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	-	-	-	-	-	-
6	+	++	+	+	-	-	-	-
7	+	+	-	-	-	-	-	-
8	+	+	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	+	-	-	-	-
10	+	+	-	-	-	-	-	-

* d. pure : douve pure
* d. incluse : douve incluse.

II) En réaction de déviation du complément :

Nous insisterons surtout sur la spécificité de cet antigène. Cette spécificité a été montrée par une étude de Pautrizel. Cet auteur a appliqué la réaction de déviation du complément (de la distomatose) sur des sérums de sujets sains, de malades, et de sujets présentant une éosinophilie d'origine indéterminée.

Résultats et détails de cette étude (46)

- Sujets apparemment sains 144 sérums
- Sujets syphilitiques 201 sérums
- Sujets porteurs de parasites divers 65 sérums

(Trichocéphales, Ascaris, Oxyures, Ankylostomes Taenia saginata, Schistosomes, Loa-loa, kyste hydatique).

- Sujets présentant une éosinophilie élevée d'origine imprécise. 21 sérums

Toutes les réactions ont donné des résultats négatifs ; ceci montre la haute spécificité de l'antigène distomien utilisé et écarte d'autant les erreurs de diagnostic par fausse positivité.

B/ Les anticorps testés par l'intradermoréaction, la réaction de déviation du complément, l'immunofluorescence : leur apparition, leur évolution :

L'intradermoréaction (44) à l'antigène distomien met en évidence des anticorps tissulaires d'origine allergique. Ces anticorps comme nous l'avons déjà signalés ne sont guère spécifiques des antigènes de Fasciola hépatica. Leur apparition est lente, la réaction n'est positive que 2 mois après le début de l'infestation. Leur disparition est aussi très lente ; ce test ne permet pas de suivre l'effet favorable de la thérapeutique. Citons Coudert : "ce test dermique ne permet pas de suivre la disparition des parasites car ainsi que nous avons pu le vérifier souvent, son intensité ne diminue que très lentement en cas de cure radicale et de façon trop variable pour qu'il soit possible d'en tirer des conclusions valables".

D'autre part, Biagi, Tay et Bortella rapportent une réaction positive 5 ans après guérison.

Les anticorps dépistés par la réaction de déviation du complément et par l'immunofluorescence apparaissent 15 jours après le début de l'infestation et leur taux va en augmentant jusqu'à la phase d'état. A ce stade là, leur titre se stabilise et traduit l'équilibre qui s'est réalisé entre l'hôte et le parasite. Ceci dure tant que vit le parasite.

Après traitement, l'évolution est toute différente.

Dans le cas de l'immunofluorescence, Ambroise Thomas (1) note une augmentation dès la fin du traitement des anticorps fluorescents. Le titre moyen est près de 5 fois supérieur à sa valeur avant le début de la cure et le niveau maximum de la courbe sérologique est atteint après un mois seulement. Ces modifications sérologiques résultent évidemment de la destruction des vers et de la libération d'antigène distomiens somatiques. Pour expliquer la précocité et l'importance de ce phénomène sérologique, différentes hypothèses peuvent être avancées. Il est d'abord possible que la déhydroémétine agisse très rapidement et provoque la lyse de tous les vers dans un délai très court. Une autre hypothèse tient compte de la taille de Fasciola hepatica qui présente un rapport volume/surface important bien plus grand que celui des schistosomes ; dans ces conditions, il est normal que les antigènes somatiques soient, par rapport aux antigènes de surface, plus abondants chez les douves que chez les schistosomes et que la libération de ces antigènes somatiques provoque des phénomènes plus accusés et plus précoces dans les distomatoses que dans les bilharzioses.

La diminution des anticorps fluorescents est, elle aussi, très rapide. En effet, dès le 2ème mois qui suit la fin du traitement, le titre commence à décroître progressivement et il se négative le plus souvent 1 ans après la cure thérapeutique. L'efficacité du traitement est donc vérifiée tout d'abord par une élévation du titre des anticorps fluorescents, puis par leur diminution.

En ce qui concerne l'évolution post-thérapeutique des anticorps fixant le complément, il existe quelque différence. Ainsi que l'a vérifié Pautrizel (43), leur taux ne subit aucune augmentation après traitement, il chute d'emblée et se négative 9 à 10 mois après le début du traitement.

L'évolution du titre des anticorps dépistés par ces deux méthodes nous permet donc de suivre, pas à pas, l'évolution de la maladie et de vérifier l'efficacité de son traitement.

LA METHODE D'IMMUNOFLUORESCENCE ADAPTEE A LA DISTOMATOSE (1)

I - Historique

La première application dans le diagnostic de l'immunofluorescence fut le fait d'une étude de Fragues de Azevedo et Coelho Rambert en 1965. Leur réaction est effectuée à partir de miracidiums de Faciola hepatica. L'inconvénient majeur est que tous les miracidiums ne fixent pas les anticorps fluorescents, la lecture des résultats est donc considérablement compliquée.

Ceci a amené Ambroise Thomas (1) à mettre au point une nouvelle technique où l'antigène est une coupe de douve adulte.

II - Principe

L'immunofluorescence est un examen sérologique qui permet la mise en évidence indirecte d'anticorps spécifiques dans le sérum d'un sujet malade.

"Ce test permet la caractérisation, à partir d'un antigène connu d'un anticorps inconnu". On peut schématiquediviser cette réaction en trois parties :

1) Dans un premier temps, on fait agir sur l'antigène le sérum étudié. Si dans ce sérum, il existe des anticorps un complexe anticorps antigène va se former ; il est dénommé complexe de "diagnostic".

2) Le deuxième temps est la préparation d'un conjugué fluorescent, associé à un contre colorant (le bleu d'Evans) ; ce conjugué est fait de l'association de globulines anti-humaines (préparées sur lapin, en général) et de l'isothiocyanate de fluoroscéine.

3) On se sert dans un troisième temps de ce conjugué fluorescent pour réaliser le temps de "révélation". Le conjugué fluorescent se fixe sur le complexe de diagnostic, et en lumière ultra-violette ou en lumière bleue, réalise un ensemble fluorescent visible.

III - Technique (cf. schéma)

1°) Les matériels

a) L'antigène distomien (de grande douve)

Il est obtenu à partir de douves venant d'être prélevées sur des foies de bovins ou d'ovins. Il est facile de se procurer ces foies dans n'importe quel abattoir. Ces douves sont ensuite lavées par trois fois dans de l'eau physiologique, puis conservées au congélateur à -25°.

La préparation des étalements antigéniques demande ensuite plusieurs manipulations :

- un ver est mis à décongeler et est étalé sur une lame propre,

- dans un deuxième temps, on coupe, au moyen d'une lame de rasoir stérile, les deux parties latérales du parasite (sch. 1),

- chaque lamelle vermineuse ainsi découpée est enroulée sur elle-même et déposée avec une goutte d'eau distillée sur l'un des petits plateaux du microtome à congélation (sch. 2),

- le plateau est ensuite déposé sur son support face au microtome. La température est réglée à -14° ; à ce stade de congélation, la consistance de la douve permet une coupe facile (consistance ni trop molle, ni trop cassante),

- au bout d'une heure environ, le parasite est à la température voulue ; la coupe peut commencer. L'appareil est réglé pour réaliser des coupes de 4 microns,

- à chaque tour de manivelle, une lamelle de douve de 4 microns d'épaisseur et de 2 à 3 mm de diamètre est déposée sur le bord supérieur du couteau.

Il est alors facile de fixer cette tranche de parasite congelée sur une lame (propre, sèche, délipidée et gravée de deux cercles) restée à la température du laboratoire.

Il suffit d'appliquer cette lame bien à plat sur le couteau et la tranche d'antigène va adhérer à la lame mordancée. Ces lames pourvues chacune de deux étalements antigéniques sont ensuite conservées au congélateur à -25° ;

b) Liste de tout le matériel nécessaire

- douves adultes conservées au congélateur
- congélateur à - 25°
- lames fines (propres, sèches, délipidées et gravées de deux cercles)
- une boîte de dissection stérile (pinces, lames de rasoir)
- une étuve à 37°
- de l'eau physiologique à 9 ‰
- de l'acétone
- un tampon à ph 7,2
- de nombreuses pipettes Pasteur
- des sérums
- du conjugué fluorescent (fabriqué par l'institut Pasteur)
- le contre-colorant ou bleu d'Evans utilisé à 1/1000
- un microtome à congélation
- une installation optique : microscope Reichert "Fluorpan"
- un frigidaire pour conserver le conjugué à 4°c.

2°) La technique proprement dite

a) Dilutions des sérums

Pour chaque sérum à étudier, nous disposons sur 4 tubes.

- dans le premier, 10 gouttes d'eau à 9 ‰
- dans le deuxième, 5 gouttes " " "
- dans le troisième, 5 gouttes " " "
- dans le quatrième, 5 gouttes " " "

La pipette Pasteur laissée dans le dernier tube sert ensuite à déposer une goutte de sérum dans le premier tube. On mélange, et on prend 5 gouttes du premier tube pour les porter dans le second, cela nous donne un nouveau mélange et ainsi de suite. 4 dilutions sont ainsi réalisées : 1/20°; 1/40° ; 1/80° ; 1/160°.

b) La fixation

Les lames porteuses des étalements antigéniques sont numérotées, puis plongées pendant 10 mn dans l'acétone.

c) Répartition des sérums

Sur chaque étalement antigénique, on dépose deux gouttes de chaque dilution des sérums de la façon suivante :

- lame n° 1 : sérum témoin + à gauche
  sérum témoin - à droite

- lame n° 2 : rien. Cet étalement sert de témoin conjugué seul.

- lame 3 et 4 : sérum inconnu aux quatre dilutions.

On place ensuite les lames sur leur support en bois et le tout est mis à l'étude à 37°c en atmosphère humide, pendant 1/2 heure.

d) Lavage

Les lames sont placées dans les paniers en verre et plongées dans deux bains successifs de tampon à ph 7,2 (5 mn dans chaque bain).

On essuie ensuite chaque lame (la face postérieure entièrement et du côté des étalements toute la face extérieure aux deux cercles). Le séchage complet est obtenu devant un ventilateur.

e) Action du complexe conjugué fluorescent + bleu d'Evans : formule de la solution :

8,6 cc d'eau physiologique à 9/1000
0,4 cc conjugué fluorescent dilué au 1/20°
1 cc de bleu d'Evans au 1/1000

2 gouttes de cette solution sont réparties sur chaque étalement antigénique, les lames sont ensuite placées en atmosphère humide dans une étuve à 37° pendant 1/2 h.

f) Lavage (idem d)

g) Lecture au Reichert "Fluorpan".

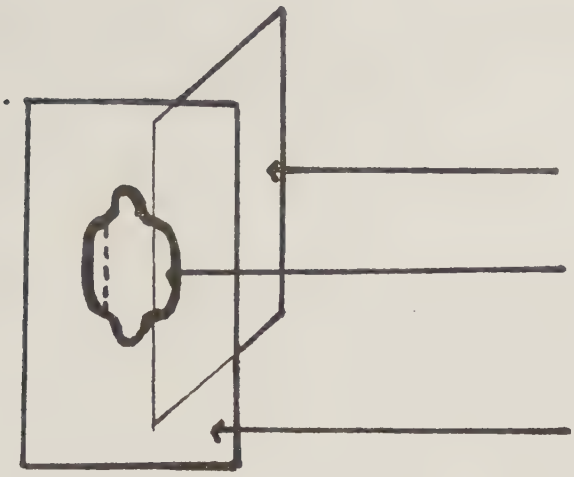
Les résultats sont positifs pour une couleur verte fluorescente.

Les résultats sont négatifs si la coupe apparaît rouge (coloration due au bleau d'Evans).

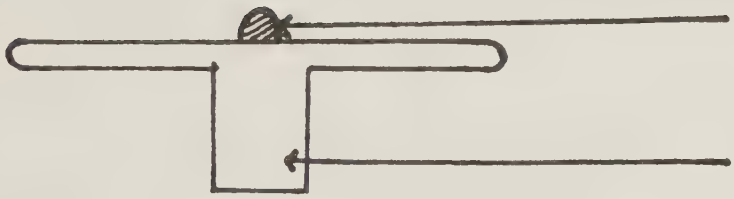
Le taux d'anticorps significatif des distomatoses est atteint pour une positivité supérieure ou égale à la dilution de 1/40°.

Schémas

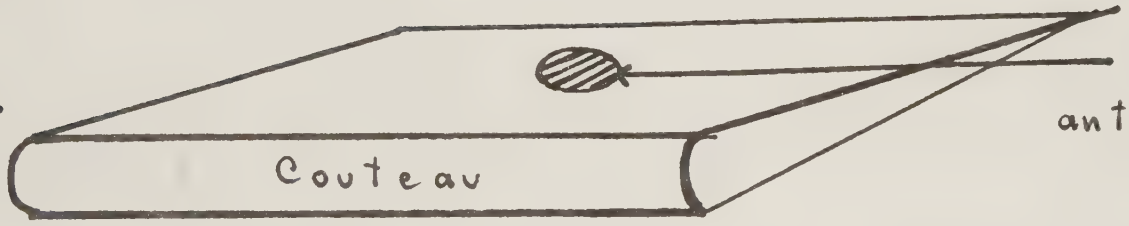
ma 1

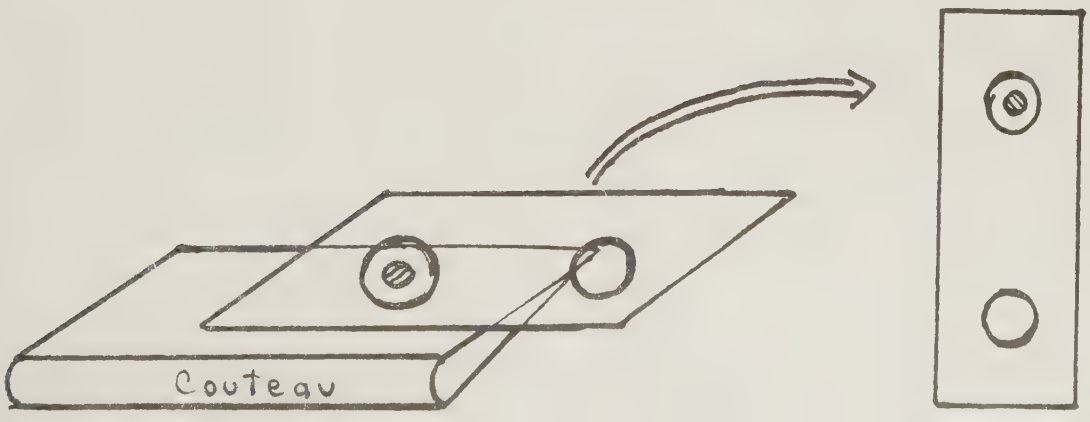


ma 2



3





METHODE DE LA REACTION DE DEVIATION DU COMPLEMENT ADAPTEE A LA DISTOMATOSE (44)

I - HISTORIQUE :

Dès 1909, Weinberg utilise la fixation du complément hémolytique dont le principe a été posé par Bordet et Gengou. En 1921, Servantie applique, avec succès, cette technique à un cas humain. L'inconstance des résultats notés par les premiers auteurs qui utilisèrent le séro-diagnostic de la distomatose et surtout la discordance entre la biologie et la clinique jetèrent un discrédit sur le diagnostic immunologique de cette parasitose. Cependant, les progrès réalisés en immunologie permettent maintenant de limiter, voire même de supprimer les fausses réactions. Profitant de ces récentes acquisitions, les Bordelais avec Pautrizel ont mis au point une technique de réaction de déviation du complément adaptée à la distomatose.

II - PRINCIPE :

La réaction de Bordet et Gengou dite "réaction de déviation du complément" ou "réaction d'hémolyse" est une méthode générale de diagnostic sérologique des maladies infectieuses qui permet de détecter dans un sérum de malade un anticorps quelconque quand on possède l'antigène ou d'identifier un antigène dont on détient l'anticorps. La réaction est fondée sur le pouvoir que possède certains complexes antigène-anticorps d'absorber le complément, la disparition de celui-ci étant révélée par un test d'hémolyse.

On prépare l'union éventuelle de l'antigène et de l'anticorps en présence de complément. Si celui-ci capté par l'immun-complexe, disparaît du champ de la réaction, le test est positif ; si le complément est resté libre, le test est négatif.

On reconnaît la disparition ou la persistance du complément par addition dans un deuxième temps d'un immun-complexe dit "système hémolytique"véritable réactif du complément, formé par des érythrocytes (E) de mouton complexés (on dit sensibilisés) par leurs anticorps de lapin (A). Si l'immun-complexe hypothétique s'est formé (test positif), il a capté le complément au cours du premier temps de la réaction et l'hémolyse ne se produira pas.

Si l'immun-complexe ne s'est pas formé (test négatif), le complexe est demeuré disponible, il est alors adsorbé par EA dont il provoque l'hémolyse : une belle coloration rouge d'oxyhémoglobine apparaît dans le milieu. La réaction de Bordet et Gengou est d'une grande sensibilité : il suffit de 0,005 microgrammes à 0,1 microgramme d'azote d'anticorps pour qu'elle soit positive.

Elle est très largement utilisée en sérologie courante pour le dépistage des anticorps parasitaires, bactériens, rickettsiens et viraux.

III - LA TECHNIQUE :

METHODE ET LECTURE DE LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

Nous avons, pour ce travail, utilisé la méthode de déviation du complément que nous avons apprise au Laboratoire d'Immunologie parasitaire du Professeur PAUTRIZEL de Bordeaux.

Cette méthode dérive de la technique générale dite de KOLMER utilisant la fixation du complément lente à froid à + 4°c pendant 16 à 18 heures. Mais il est indispensable, avant de débuter la réaction, d'effectuer un titrage de l'antigène et du complément.

1 - TITRAGE DE L'ANTIGENE

La suspension antigénique obtenue après ultrasonage est testée à différentes dilutions vis-à-vis d'un sérum de malade riche en anticorps afin de déterminer la dilution présentant le maximum de sensibilité au cours de la réaction pratiquée (tableau I).

Dans le cas du réactif que nous avons préparé, cette dilution est au 1/15ème.

2 - TITRAGE DU COMPLEMENT

Le titrage du complément est effectué sur tubes et en présence d'antigène (afin d'éviter un éventuel pouvoir anticomplémentaire) selon le schéma suivant : tableau 11.

3 - REACTION PROPREMENT DITE

La réaction est effectuée quantitativement sur les dilutions de sérum chauffé à l'étuve 30 mn à 56° en introduisant dans chaque alvéole correspondante à la réaction :

- sérum pur ou dilué — I goutte
- antigène — I goutte
- complément (18 unités) — 1 goutte

Paralèlement, on prépare un témoin sérum et témoin antigène :

Tableau I : titrage de l'antigène distomien

antigène	Sérum								
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
1/5	++++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-
1/10	+++	+++	+++	+++	++	++	+		-
1/15	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	-
1/20	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-
1/25	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-
1/30	++	+++	+++	++	++	+	+	-	-
1/35	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-
1/40	+++	+++	+++	++	++	+	+	-	-

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Complément au 1/90°	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Tampon	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Complément dilué	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Antigène	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Sérum hémolytique (1/500)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Globules rouges à 4 %	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Tampon	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
En tubes	1 heure à 37°c. Etuve. Centrifugeuse Déterminer l'unité H. 50 par rapport à un témoin Hémolyse 50 % (G. R. 4 % : 1 - eau distillée : 9)										
Dilutions du complément à employer pour obtenir 18 unités dans une goutte	1/5	1/6	1/7	1/8	1/9	1/10	1/11	1/12	1/13	1/14	1/15

.5 "gouttes Duclaux"

- témoin sérum : sérum 1 goutte
  tampon 1 goutte
  complément 1 goutte

- témoin antigène : tampon 1 goutte
  antigène 1 goutte
  complément 1 goutte

Les plaques sont portées pendant 18 heures à +4°c et déposées ensuite à 37°c pendant 1 heure.

Deux gouttes de globules rouges sensibilisés sont introduites dans chaque alvéole :

- globules rouges à 4 %)
- sérum hémolytique au 1/500) $\frac{}{aa}$ 4 ml

Après avoir soigneusement mélangé le contenu des alvéoles, les plaques sont à nouveau portées à 37°c pendant 15 minutes. Les globules rouges sont remis en suspension. Un nouveau passage à l'étuve à 37°c durant 45 minutes est effectué.

A la sortie de l'étuve, la sédimentation des globules rouges s'achève.

4 - LECTURE DES PLAQUES

La lecture peut, dès lors, se faire.

C H A P I T R E T R O I S I E M E

NOTRE ETUDE SEROLOGIQUE

NOTRE ETUDE SEROLOGIQUE

SERUMS DE DONNEURS

A - Présentation

Les sérums étudiés au nombre de 327 proviennent tous de donneurs habitant la vallée de Luchon où est actuellement effectuée une enquête épidémiologique (cf. carte).

Ceci représente le début d'un dépistage qui couvrira bientôt toute la région toulousaine.

Dans cette première étude, il nous paraît utile de donner le maximum de renseignements sur ces donneurs afin de déceler une éventuelle corrélation entre l'infestation distomienne et tel ou tel critère biologique. Nous préciserons donc dans différents tableaux :

- le lieu de résidence du donneur
- son sexe
- ses particularités sanguines (groupes A, B, O, AB ; rhésus + ou -)

Nous donnerons ensuite les résultats obtenus en immunofluorescence et en réaction de déviation du complément.

- Tableau résumant la provenance géographique des sérums:

Total des sérums	327
Luchon	170
St-Béat	44
Gaud	20
Cierp	22
Communes avoisinantes	32
Etrangers à la Haute-Garonne	17

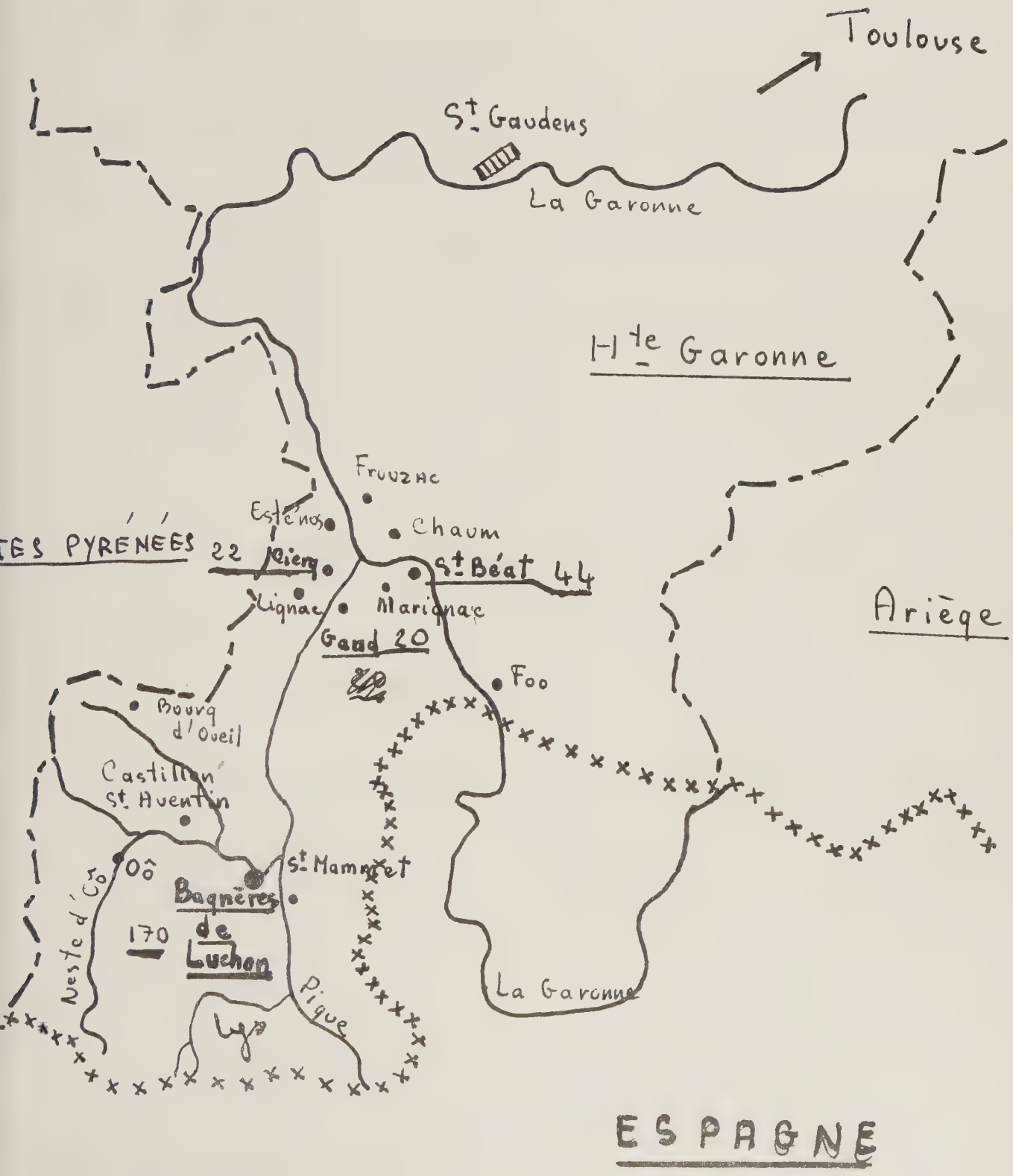
- Répartition par sexe :

Total	327
Hommes	173
Femmes	154

- Répartition par groupage sanguin et rhésus

Total	327
Groupe A	127

REGION ETUDIEE



Groupe B	32
Groupe O	162
Groupe AB	6
Rhésus +	258
Rhésus -	69

B - Résultats

- En immunofluorescence

Nous donnons les résultats (positifs et négatifs) dans leur chiffre absolu et en pourcentage pour chaque dilution.

sérums	dilutions	chiffre absolu	%
Total		327	100 %
Positifs	1/20°	25	7,63 %
	1/40°	4	1,22 %
Négatifs	1/20°	303	92,3 %
	1/40°	323	98,78 %

- En Réaction de déviation du complément :

La dilution employée pour le dépistage a été de 1/8°

Total	327	100 %
Positifs	0	0 %
Négatifs	327	100 %

- Renseignements sur les 4 sérums positifs ayant un taux significatif (1/40°) en immunofluorescence :

I	femme	Cierp	sans profession	A+	34 ans
2	homme	St-Béat	commerçant	AB+	34 ans
3	femme	Luchon	employé d'hôpital	A+	36 ans
4	homme	Castillon par L.	Instituteur	B+	29 ans

C - Commentaires :

Comme nous l'avons déjà signalé dans la présentation de la technique d'immunofluorescence, seul le taux de 1/40° doit être considéré comme significatif de la maladie.

L'endémie distomienne révélée par l'immunofluorescence est donc de 1,22 %. Ces sérums nous ayant été fournis par le Centre de Transfusion Sanguine de Toulouse, il ne nous a malheureusement pas été possible de confirmer ce résultat par un interrogatoire ou mieux par l'évolution post-thérapeutique des anticorps sériques intéressés.

Aucun résultat positif n'a été décelé par la méthode de réaction de déviation du complément.

Cette apparente contradiction n'implique absolument pas la mise en cause de l'une ou l'autre méthode, mais confirme qu'il existe une différence de sensibilité entre les deux techniques. Cette notion déjà affirmée par les travaux d'AMBROISE THOMAS (1) nous montre clairement la supériorité de l'immunofluorescence pour la réalisation d'une enquête épidémiologique.

SERUMS DE SUJETS SUSPECTS DE DISTOMATOSE

Le lot de sérums humains a été envoyé au Laboratoire de Parasitologie de l'Hôpital Purpan par différents services, cette demande se justifiait quelques fois par la présence de signes cliniques évocateurs de distomatose mais, bien sûr, le plus souvent, par une hyperéosinophilie associée à un tableau clinique qui ne faisait pas sa preuve. Il est à remarquer que, pour chacun de ces sérums, plusieurs examens de sérologie parasitaire étaient réclamés par le clinicien tant il est vrai que l'hyperéosinophilie n'est évocatrice que de parasitose en général. Ceci explique que dans le lot que nous avons étudiés, le % des positifs "distomiens" soit relativement faible, certains de ces sérums ayant été trouvés positifs sur d'autres parasitoses.

Le lot de sérums animaux (bovins) nous a été fournis par le laboratoire de Parasitologie de l'Ecole Vétérinaire de Toulouse. Ces animaux étaient l'objet d'une analyse de selles soit systématique, soit motivée par différents troubles cliniques ; il a donc été particulièrement intéressant de juxtaposer à cet examen coprologique les résultats des deux méthodes sérologiques.

a) LES SERUMS DE MALADES

Notre travail a porté sur 52 sérums. Nous donnerons tout d'abord les résultats globaux avec leur commentaire, nous insisterons ensuite plus particulièrement sur les cas de deux malades qui illustrent bien la maladie à deux stades différents.

- Résultats globaux

	négatifs	positifs
Immunofluorescence	36	16°
Réaction de déviation du complément	40	11

. positifs à 1/40° et plus

Ce premier tableau rend compte de la conclusion tirée du chapitre épidémiologique, à savoir la plus grande sensibilité de l'immunofluorescence.

Comparons maintenant les résultats de ces deux méthodes en fonction des dilutions.

- Tableau

N° des sérums	I.M.F.	R.D.C.
1	1/40°	-
2	1/160°	1/128°
3	1/90°	-
4	1/40°	-
5	1/40°	-
6	1/40°	1/64°
7	1/40°	-
8	1/40°	1/32°
9	1/40°	-
10	-	1/80°
11	1/160°	1/8°
12	-	1/16°
13	1/40°	-
14	-	1/32°
15	1/80°	1/64°
16	1/40°	-
17	1/40°	1/16°
18	1/1000°	1/128°
19	1/320°	1/256°

A la lecture de ces résultats, plusieurs constatations peuvent être faites :

1) Dans 8 cas, les deux réactions ont été positives simultanément.

2) Pour 7 de ces 8 sérums, la positivité a été obtenue à une dilution plus importante par la technique de l'immunofluorescence.

3) Pour 8 autres sérums, la positivité a été décelée seulement par l'immunofluorescence.

4) Enfin, 3 sérums ne se sont révélés positifs que par la technique de réaction de déviation du complément.

En marge de ces premières conclusions, il est bon de rappeler que le petit nombre de sérums étudiés ne confère à ce travail aucune valeur statistique.

La première constatation nous fait conclure à un manque relatif de concordance entre les deux méthodes puisque seuls 8 sérums sur 19 se sont révélés positifs à chacune des deux techniques. Cette éventualité est certes possible mais les constatations 2 et 3 qui prouvent la plus grande sensibilité de l'immunofluorescence éclairent quelque peu le problème. En effet, cet apparent manque de concordance peut être expliqué par la différence de sensibilité existant entre les deux méthodes ; différence qui, pour des taux faibles d'anticorps sériques, fait que seule l'immunofluorescence est en mesure de nous fournir des résultats positifs. Pour nous résumer, nous dirons que pour de fortes concentrations d'anticorps sériques, les deux techniques donneront un résultat positif et que pour des taux plus faibles, seule l'immunofluorescence est parlante. Ce raisonnement nous amène à conclure que, dans l'étude faite ci-dessus, 16 sérums sur 19 ont donné des résultats non contradictoires avec les deux méthodes employées.

Ceci est une explication théorique ; il peut s'y ajouter des raisons plus techniques, à savoir un certain vieillissement des sérums (analysés pour la plupart 2 mois après la date de leur prélèvement sur les malades) et les nombreuses décongélations nécessaires à la répétition des réactions.

La quatrième constatation est elle en contradiction avec ce que nous venons de dire. Pour 3 sérums, seule, la réaction de déviation du complément a donné une réponse positive. La technique de l'immunofluorescence ne pouvant être mise

en cause, l'hypothèse d'un retard ou d'une absence de la synthèse des anticorps intéressant la réaction de fluorescence peut être invoquée chez certains sujets. L'absence de travaux spécifiant la nature et la date d'apparition précise des 2 groupes d'anticorps (les uns fixant le conjugué fluorescent, les autres le complément) fait que rien ne peut être tranché définitivement. Tout ce que l'on sait, c'est que les anticorps intéressant les deux réactions apparaissent vers le 15e jour après le début de l'infestation, mais on ignore actuellement s'il existe ou non un décalage dans la synthèse de ces deux groupes d'anticorps. Pour les 3 sérums en cause, ce décalage semble exister et n'être que le fait d'une réponse immunitaire propre à certains individus. Quoiqu'il en soit, le problème reste entier et ne sera résolu que par la multiplication des examens sérologiques sur des malades en phase d'invasion.

Ceci nous amène à poser la valeur diagnostic de ces deux méthodes. Dans le cas où les deux techniques donnent simultanément une réponse positive, aucun doute n'est possible, le diagnostic est fait ; le traitement peut commencer.

Par contre, si seule l'une ou l'autre méthode répond positivement, le diagnostic est fortement probable et le clinicien a alors le choix entre deux voies :

- ou bien instaurer immédiatement un traitement et redemander après la cure thérapeutique un examen sérologique qui lui confirmera le diagnostic par une importante montée des anticorps fixant le conjugué fluorescent (1),

- ou bien attendre quelques jours (10 à 15) et réclamer à nouveau les deux examens sérologiques, cette nouvelle lecture faite, que la positivité soit affirmée par une seule ou par les deux méthodes à la fois, le diagnostic doit être considéré comme sûr et le traitement est à faire.

b) DEUX OBSERVATIONS DE DISTOMIENS : énoncé et commentaire :

1) M. M.... âgé de 32 ans, travaille à la S.N.C.F. comme chef de gare à Vic-sur-Cère (Cantal). L'élevage de bovins est pratiqué dans cette région.

Le malade est hospitalisé le 16/3/70 à l'Hôpital de Purpan. A l'interrogatoire, M. M.... affirme se souvenir avoir mangé du cresson durant le mois de janvier ; ce cresson, lui semble-t-il, provenait d'une cressonière. La symptomatologie qui l'amène à consulter est pauvre, son état général est parfaitement conservé ; le tableau clinique est à ce moment là, caractérisé par :

- un prurit relativement intense au mois de janvier se prolongeant depuis ; ce signe a décidé le malade à venir consulter au service de dermatologie de l'Hôpital de Toulouse début février.

Le 3/2/70, le dermatologue demande une numération formule sanguine ; à la lecture de cet examen, une seule anomalie : une hyperéosinophilie à 24 %.

Le 26/2/70, le prurit n'ayant jamais cessé, une parasitose est envisagée et un examen de selles réclamé ; cette analyse ne dénote rien d'anormal. Fin février, une nouvelle prise de sang est effectuée ; l'hyperéosinophilie est toujours présente.

Le malade est hospitalisé quelques jours plus tard.
Examen au lit du malade :

- bon état général, il n'y a ni amaigrissement, ni troubles digestifs d'aucune sorte,

- le prurit est retrouvé, la peau présente toutefois un aspect normal,

- le bilan respiratoire et cardio-vasculaire est normal. Devant ce tableau, le clinicien envisage la possibilité d'une distomatose et nous fait parvenir du sérum pour une éventuelle confirmation sérologique.

Les résultats fortement positifs affirment sans discussion le diagnostic. Le sérum est trouvé positif au taux de 1/1000° par l'immunofluorescence et de 1/128° par la réaction de déviation du complément.

Le traitement émétinien est dès lors effectué et le malade revient chez lui apparamment guéri. Depuis 5 mois, aucun signe de reprise de la maladie n'étant apparu, M. M.... est considéré comme définitivement guéri.

Il est cependant à regretter que les contrôles sérologiques de guérison n'aient pas été effectués.
Commentaires :

Nous pouvons, tout d'abord, situer dans le temps les stades successifs de la distomatose de M. M.... : en premier lieu, la phase d'invasion (du 15 janvier au 15 février environ) puis la phase de début (du 15 février à la deuxième moitié du mois de mars, date du traitement). La phase d'état n'apparaissant qu'au 3e ou 4e mois est exclue, l'absence d'oeufs dans les selles le confirme.

De l'observation de ce malade, nous pouvons tirer deux enseignements :

- premièrement, la grande fiabilité des deux techniques sérologiques à ce stade de la maladie qui ont,si l'on peut dire, affirmé le diagnostic par "excès".

- deuxièmement, ce malade, par sa guérison, illustre parfaitement l'efficacité du traitement effectué en phase de début. Il faut, cependant, remarquer que, bien que la cure thérapeutique ait été effectuée à un moment opportun, elle aurait pu l'être encore plus tôt si le médecin traitant avait suspecté une distomatose et demandé les examens sérologiques spécifiques. Les taux très élevés d'anticorps trouvés deux mois après l'ingestion du cresson contaminé laissent, en effet, supposer la positivité des examens sérologiques dès la fin janvier 15 jours environ après l'infestation.

Une ultime remarque doit être faite à propos de l'analyse coprologique ; cet examen ne devrait plus être réclamé isolément mais toujours accompagné d'une recherche d'anticorps sériques spécifiques.

2) M. D... âgé de 55 ans, retraité, domicilié à Montauban (82).

Histoire de la maladie actuelle :

Depuis le mois de novembre 1969, M. D... présente :

- une asthénie importante.
- un amaigrissement avec fonte musculaire.
- des gastralgies d'horaire très variable.
- une anorexie très importante. Depuis le 20/11/69 le malade ne buvait que deux verres de lait par jour.

Devant un tel tableau, M. D... est hospitalisé à Montauban le 26/12/69.

Une cause néoplasique de la sphère digestive est recherchée, une lacune est trouvée au 1/3 moyen de l'oesophage.

La biologie montre :

- une vitesse de sédimentation accélérée (102,122).
- une hyperéosinophilie.
- l'analyse des selles révèle de nombreux oeufs de Fasciola hepatica.

Le diagnostic de distomatose ainsi confirmé, M. D.... est traité avec de l'Entobex et de la Déhydroémétine en deux

cures de 10 jours séparées par 3 semaines d'intervalle libre.

Malgré le traitement, l'éosinophilie continue d'augmenter et les oeufs de douve sont toujours présents dans les selles.

M. D.... est alors à nouveau hospitalisé le 15/4/70 à Toulouse cette fois-ci.

Cette hospitalisation est motivée par la persistance de signes évolutifs de distomatose et par l'apparition de douleurs sous-costales hépatovésiculaires. C'est, à ce moment-là, qu'est apportée la confirmation immunologique de la maladie ; le sérum est trouvé positif au taux de 1/320° par l'immunofluorescence et de 1/256° par la réaction de déviation du complément.

L'examen, dans le service, révèle toujours un état général très perturbé (avec chute de poids, asthénie, anorexie), le malade est de plus fébrile.

L'examen digestif montre :

- un point douloureux épigastrique.
- une hépatomégalie avec débord sous-costal de trois travers de doigt.
- l'absence d'une splénogalie.

Le reste de l'examen est normal.

Du point de vue biologique, nous notons :

- une hyperéosinophilie à 28 %.
- la présence d'oeufs dans les selles.
- une augmentation des transaminases sériques G.O.T. (60 unités) G.P.T. (25 unités).

Un cancer digestif toujours évoqué n'ait jamais mis en évidence, l'oesophagoscopie, la ponction biopsie du foie et la laparoscopie ne montrent rien d'anormal.

Un second traitement identique au premier est alors entrepris.

Le malade reparti chez lui se représente le 3/7/70 à la consultation du service pour un bilan complet de sa parasitose. Une amélioration considérable de l'état général est constatée. Le bilan hépatique est normal.

L'hyperéosinophilie est tombée à 8 %. Une nouvelle laparoscopie montre des nodules blancs sur les deux lobes du foie, une biopsie de ces nodules élimine un cancer secondaire hépatique. L'examen de selles pratiqué à cette occasion révèlera le 4/8/70 la présence d'oeufs de Fasciola hepatica. M. D.... revient alors à la consultation du 19/8/70 le bilan clinique y montre encore un état général bon mais l'hépatomégalie s'est reconstituée. Une prise de sang effectuée ce jour là confirme par une hyperéosinophilie à 56 % la reprise de la maladie.

Actuellement, M. D...., de nouveau hospitalisé, en est à son troisième traitement émétinien.

Commentaires :

La distomatose de M. D.... est en pleine phase d'état ; ceci est confirmé par la présence constante d'oeufs dans les selles. Ce stade, comme il a été dit, rend la thérapeutique particulièrement difficile. Nous constatons, en effet, que le premier traitement a été totalement inopérant ; le second aussi, quoiqu'il ait permi une certaine rémission avec une reprise de l'état général ; le malade en est maintenant à son troisième traitement. Tous ces inconvénients montrent clairement l'absolue nécessité de faire un diagnostic très précoce.

Cliniquement, l'état de M. D... était tel qu'à tout moment un cancer digestif était évoqué, outre le problème non négligeable de diagnostic différentiel ainsi posé, cela illustre bien la gravité des distomatoses évoluées en phase d'état.

Du point de vue immunologique, les réponses fortement positives des réactions sérologiques vérifient parfaitement l'état de prémunition propre aux maladies parasitaires.

c) LES SERUMS ANIMAUX :

Tous ces sérums proviennent d'élevages de bovins des environs immédiats de Toulouse.

Nous donnerons les résultats au moyen de tableaux qui comprendront trois colonnes, deux pour les deux réactions sérologiques utilisées y seront notés les taux maximums de positivité atteints par chaque sérum, la troisième fournira les résultats de l'analyse coprologique réalisée au même moment. Les animaux originaires d'un même élevage seront classés en lot, chaque lot sera présenté dans un tableau séparé.

- 1er lot :

Il s'agit là des sérums de 10 bovins suspects de distomatose et soumis à une analyse de selle systématique. Ces animaux n'ont encore jamais été traités.

	I.M.F.	R.D.C.	COPROLOGIE
1	1/40°	1/32°	-
2	1/160°	1/64°	450 oeufs de F.H.
3	1/160°	1/64°	-
4	1/160°	1/128°	25 oeufs de Str.
5	1/40°	1/128°	100 oeufs de F.H. 100 oeufs de Str.
6	1/80°	-	-
7	-	1/64°	50 oeufs de F.H.
8	1/80°	1/128°	200 oeufs de Str.
9	1/40°	1/64°	125 oeufs de Str.[1] 25 oeufs de F.H.[2]
10	1/160°	1/64°	300 oeufs de Str.

Une seconde enquête pratiquée 15 jours plus tard sur les animaux numérotés 2, 5, 7, 9 nous donnent les résultats suivants :

2'	1/160°	1/64°	300 oeufs de F.H.
5'	1/40°	1/128°	-
7'	-	1/64°	750 oeufs de Str.
9'	1/40°	1/16°	300 oeufs de Str.

Il est à signaler que, durant ces 15 jours d'intervalle, aucun de ces animaux n'est traité.

.[1] oeufs de Strongles digestifs
.[2] oeufs de Fasciola hepatica.

Commentaires :

A) Les réactions sérologiques affirment la maladie chez tous ces animaux.

B) Dans 8 cas sur 10, les deux techniques donnent simultanément une réponse positive.

C) L'examen des selles ne confirme le diagnostic que dans 4 cas.

D) La comparaison entre les deux tableaux nous fournit des renseignements biologiques d'ordre évolutif pour 4 boeufs:

- les anticorps sont retrouvés au même taux par les deux examens à une exception près (légère chute de la positivité constatée en réaction de déviation du complément pour le numéro 9). Le diagnostic est donc toujours immunologiquement confirmé.

- il n'en va pas de même pour l'analyse coprologique. Au premier examen, les oeufs étaient retrouvés dans les selles de chacun des 4 boeufs, le second examen montre qu'un seul est encore positif à la coprologie.

La première constatation confirme une notion déjà vue, à savoir l'importance considérable du réservoir de virus ; tous les animaux sont dans le cas présent infesté.

Toutes les considérations que nous pouvons faire sur les valeurs respectives et les différences des deux méthodes sont identiques à celles faites sur le lot humain, nous ne les répèterons pas.

Le parallèle réactions immunologiques coprologie est ici le seul élément nouveau et intéressant.

Sur le plan du diagnostic, l'insuffisance de l'analyse des selles est évidente et fait nouveau quel que soit le stade physiopathologique de la maladie. En effet, le premier tableau où dans 4 cas le diagnostic est confirmé par la présence d'oeufs dans les selles nous fait penser à juste raison que ces animaux sont en phase d'état et par suite que les 6 autres dont l'analyse est négative sont en phase de début ou d'invasion. Cette seconde assertion paraît bien douteuse à la lecture du deuxième tableau. Nous constatons, en effet, que dans un premier examen 4 animaux présentaient des oeufs dans leurs selles et que, 15 jours plus tard, sans que soit intervenu aucun traitement, 3 de ces 4 bovins sont négatifs à l'analyse coprologique. Le critère : présence d'oeufs dans les selles implique phase d'état, n'est donc valable qu'à sens unique. Au caractère tardif du diagnostic coprologique, s'ajoute aussi le fait qu'il peut être défaillant à un stade où il n'est pas supposé l'être. L'inconstance du diagnostic coprologique est, par contre, en opposition avec la stabilité des réponses sérologiques. En effet, la permanence du diagnostic est à 15 jours d'intervalle, parfaitement assurée par la mise en évidence d'anticorps spécifiques et ceci à des taux de positivité qui n'ont pratiquement pas variés. Cela affirme, une fois de plus, la fiabilité des techniques sanguines à quelque stade que soit la maladie.

- 2ème lot :

Les animaux qui constituent ce lot avaient tous une distomatose coprologiquement confirmée. Ils ont été traités spécifiquement au mois de novembre 1969. L'examen sérologique et l'analyse de selle pratiqués début avril, soit 6 mois après le traitement sont un excellent contrôle de l'évolution de la maladie.

Résultats :

	I.M.F.	R.D.C.	COPROLOGIE
1	1/20°	1/32°	700 o. de P.D.[1] 250 o. de Str.[2]
2	1/80°	1/32°	200 o. de P.D. 300 o. de Str.
3	1/80°	1/128°	200 o. de P.D. 150 o. de Str.
4	1/160°	1/64°	250 o. de P.D. 300 o. de Str.
5	1/40°	1/64°	300 o. de P.D. 100 o. de Str.
6	1/20°	1/32°	300 o. de P.D. 100 o. de Str.
7	1/80°	1/128°	150 o. de P.D. 50 o. de Str.

La coprologie positive au mois de novembre 1969 est négative 6 mois après, le traitement a, semble-t-il, été particulièrement efficace. Cet examen, le seul qui ait été pratiqué avant et après la thérapeutique, est ainsi l'unique critère biologique à traduire l'évolution de la maladie. En dépit de son caractère aléatoire, l'analyse coprologique doit ici nous faire conclure à une guérison.

1 - Oeufs de petite Douve.

2 - Oeufs de Strongles digestifs.

L'examen sérologique ne prouve, en effet, rien ; 6 mois après l'infestation, il est normal de retrouver des anticorps spécifiques.

De toute manière, la preuve absolue de guérison ne peut être apportée que par la répétition de ces analyses ; elles devraient révéler la chute, puis la disparition des anticorps, la coprologie restant, de son côté, toujours négative.

- 3ème lot :

Le sang étant hémolysé, la réaction de déviation du complément n'a pas pu être pratiquée. Ce dernier lot comprend 5 animaux.

Résultats :

	I.M.F.	COPROLOGIE
1	1/40°	200 o. de Str.
2	1/160°	400 o. de Str.
3	1/40°	-
4	1/40°	100 o. de Str.
5	1/160°	-

Signalons que les 5 bovins présentaient une diarrhée intermittente et un léger retard de croissance. Ils n'étaient soumis à aucun traitement. L'immunofluorescence affirme seule le diagnostic. La coprologie est dans tous les cas négative. Rien ne peut être conclu quant au stade évolutif de la maladie.

La démarche à suivre est ici, nous semble-t-il, de pratiquer le traitement spécifique de la distomatose et de vérifier l'évolution des taux d'anticorps sériques.

C O N C L U S I O N

Le but de ce travail a été d'approfondir les possibilités du diagnostic sérologique de la distomatose par les méthodes d'immunofluorescence et de réaction de déviation du complément.

Ces deux techniques sont nouvelles pour le Laboratoire de Parasitologie de Toulouse ; il était donc intéressant d'apporter les arguments qui renforçaient leur crédibilité.

- Dans un premier temps, le travail a consisté à mettre au point les deux méthodes ; nous devons ici remercier les équipes lyonnaise avec Monsieur le Professeur AMBROISE THOMAS et Bordelaise avec Monsieur le Professeur PAUTRIZEL dont les travaux nous ont permis une réalisation pratique rapide. De Lyon, nous est parvenu la technique d'immunofluorescence, de Bordeaux celle de réaction de déviation du complément.

- Le deuxième temps a consisté à apporter le plus d'éléments susceptibles de montrer : la fiabilité et l'intérêt diagnostique des deux techniques. Ceci a été fait dans une étude comprenant 3 parties.

. La première d'ordre épidémiologique nous a appris l'importance qu'il fallait accorder à l'immunofluorescence pour le dépistage de la distomatose.

. La deuxième partie de l'étude réalisée sur un lot de malades suspects de distomatose a été très riche d'enseignements. Elle a, tout d'abord, confirmé que la sérologie est à l'heure actuelle le seul moyen sûr de faire le diagnostic dans les trois premiers mois de la maladie ; que ce diagnostic est d'autant plus sûr que les deux réactions sérologiques répondent simultanément ; qu'il est intéressant de répéter les examens après le traitement pour suivre l'évolution de la parasitose. Les deux observations présentées à la fin de cette partie ont illustré respectivement une distomatose prise au début et guérie, et une autre en phase d'état dont le traitement est encore, à l'heure actuelle, inefficace.

. Dans la troisième partie, la juxtaposition des résultats sérologiques et coprologiques nous a permis d'affirmer que l'immunologie en phase d'état peut permettre de déceler une distomatose silencieuse sur le plan coprologique.

B I B L I O G R A P H I E

1 - AMBROISE THOMAS

Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence.
Thèse 1969, 374-388.

2 - ARVY (L.)

Données cytologiques et histochimiques sur l'hémathophagie chez Haplometra Cylindracea.
Ann. Parasit., 1950, 25, 27-36.

3 - BENEX (J.)

Le diagnostic sérologique pratique de la distomatose. Une méthode d'agglutination sur lame à l'aide d'antigène absorbé sur des particules de latex.
Bull. Soc. Path. exot., 1964, 57, 495-502.

4 - BENEX (J.), LAMY (L.) et GIEDEL (J.)

Etude de la réaction de fixation du complément à l'antigène distomien chez le mouton.
Bull. Soc. Path. exot., janvier, fév. 1959, 52, n°1, 83-87.

5 - BIAGGI (F.), TAY (J.) et PORTILLA (J.)

Valor de una intra dermo-reaccion y una reaccion de precipitacion en el diagnostico de la Fasciolosa humana.
Rev. Latino. amer. Microbiol. 1958, I, 69-78.

6 - BIGUET (J.), CAPRON (A.) et coll.

Les antigènes de Fasciola hepatica. Etude électrophorétique et immuno-électrophorétique.
Ann. Parasit. Hum., Comp. av-juin 1962, 37, 224-231.

7 - BIGUET (J.), CAPRON (A.), et coll.

Le diagnostic immunologique des parasitoses.
Lille méd. 1968, 13, 5.

8 - BIGUET (J.), ROSE (G.) et CAPRON (A.)

Le diagnostic de la distomatose à Fasciola hepatica par la réaction d'hémagglutination. Comparaison avec les résultats de l'immuno-électrophorèse et de la réaction d'hémolyse.
Bull. Path. exot., sept. oct. 1965, 58, 866-878.

9 - BLOMFIELD (A.M.), COOMBS (R.R.A.) et HOLE (N.H.)

The conglutination phenomenom.
J. of Hyg. 1949, 47, 132-141.

10 - BLOMFIELD (A.M.), COOMBS (R.R.A.), et HOLE (N.H.)

The conglutination phenomenon.
J. of Hyg. 483, 73-95.

11 - BONNIN (H.) et MORETTI (G.)

Les lois d'occurrence de l'éosinophilie dans les parasitoses animales.
La Presse médicale, 1952, 60, 221.

12 - BRODOV (L.E.)

Sur les réactions leucémoïdes de type éosinophile dans la période aiguëde l'opistorchose.
Terapevticheskii Arkhiv (Moscou) 1969, 41, 113-115.

13 - CAPRON (A.) et coll.

Possibilités nouvelles dans le diagnostic immunologique de la distomatose humaine à Fasciola hepatica. Mise en évidence d'anticorps sériques par l'immuno-électrophorèse.
Presse méd. 1964, 72, 3103-3107.

14 - CAPRON (A.) et Coll.

Le diagnostic immunologique des manifestations hépatiques ou hépatobiliaires des helminthiases.
Rev. Med. Chir. Mal.Foie, av. 1967, 42, 81-104.

15 - CAPRON (A.), ESCUT (J.) et l'HERMINE (C.)

Distomatose familiale. Etude radiologique et biologique.
Arch. Mal. App. dig., janv-fév. 53, 158-161.

16 - CAPRON (A.) et coll.

Apport de la distomatose expérimentale à la connaissance de la distomatose humaine à Fasciola hepatica. Aspects immunologiques.
Rev. Immunol., janv-fév-mars 1965, 29, 25-41.

17 - CAPRON et coll.

Diagnostic immunologique de la paragaminose humaine. Mise en évidence d'anticorps sériques spécifiques par immuno-électrophorèse.
Bull. Soc. Path. exot., mai-juin 1965, 58, 474-487.

18 - COOMBS (R.R.A.) et HOLE (N.H.)

The conglutination phenoménon.
J. of Hyg. 1950, 48, 73-95.

19 - COUDERT (J.) et coll.

La réaction d'immunofluorescence sur coupes de Fasciola hepatica : une nouvelle technique pour le séro-diagnostic de la distomatose.
Bull. Soc. exot., 1967, 60-71.

20 - COUDERT (J.)

Valeur comparée des éléments de diagnostic de laboratoire pour le dépistage et la conduite du traitement de la distomatose hépatique européenne.
Path. Biol. 1960, 8, 1145-1150.

21 - COUDERT (J.) et COLY (M.)

Essai d'application de la réaction d'agglutination des particules de colloïdon à quelques parasitoses.
Ann. de Parasitol. 1956, 31, 489-499.

22 - COUDERT (J.)

Antigènes lyophilisés en parasitologie
La Presse Méd. 1955, 63, 1020.

23 - STAUB (A.M.), RAYNAUD (M.) et DESCHIENS (R.)

Immunité dans les maladies parasitaires
Cours d'immunologie générale et de sérologie de l'Institut Pasteur, 1966, 7, 1-16.

24 - DESCHIEN (R.), LE CORROLLER (Y.) et MANDOUL (R.)

Enquête sur les foyers de distomatose hépatique de la vallée du Lot : Epidémiologie.
Annales de l'Institut Pasteur, Juin 1961, 100, 697-712.

25 - DESCHIEN (R.), LE CORROLLER (Y.) et MANDOUL (R.)

Enquête sur les foyers de distomatose hépatique de la vallée du Lot : Prophylaxie.
Annales de l'Institut Pasteur, Juillet 1961, 101, 5-12.

26 - FAURE (L.), CEYER (A.) et GUEFFIER (G.)

Considérations sur l'éosinophilie tropicale.
Journ. de Med. de Bx, Octobre 1954, 1199-1206.

27 - GENEVRIER (R.) et BOURGEOIS (M.)

Syndrome de Loeffler au cours d'une distomatose.
Sem. Hôp. Paris, 4 mai 1959, n° 21, 1561-1562.

28 - GIRAUDET (J.)

Réflexions sur une épidémie de Distomatose hépatique humaine.
La Presse Médicale, janvier 1968, 76, 189-192.

29 - HAMELLE (A.)

Intérêt diagnostique de la distomatose à Fasciola hepatica. Le problème de l'éosinophilie dite essentielle.
Thèse Lyon, 1959, n° 12.

30 - LANG (B.Z.)

Immunité acquise à Fasciola hepatica au Laboratoire chez la souris blanche.
Am. J. Trop. Med. Hyg., juil. 1968, 17, 561-567.

31 - LARROUY (G.), SEGUELA (J.P.) et SOULA (F.B.)

Les Trématodes.
Cours de Parasitologie médicale, 1970, 2, 3-45.

32 - LAVIER (G.)

L'éosinophilie au cours de la distomatose hépatique à grande douve.
Sang, 1942-1943, 15, 547.

33 - LAVIER (G.)

L'éosinophilie sanguine dans les helminthiases.
Sang, 1944-1945, 16, 510.

34 - LAVIER (G.)

Les éosinophilies parasitaires.
Sang, 1957, 28, 468.

35 - LAVIER (G.)

Les éosinophilies parasitaires.
Revue Pathologie gén. et comparée, 1955, 55, 1280.

36 - LAVIER (G.) et STEFANOPOULO (G.)

L'intradermoréaction et la réaction de fixation du complément dans la distomatose humaine à Fasciola hepatica.
Bull. Soc. Path. exot., 1944, 37, 302.

37 - MA (H.C.) et coll.

La clonorchiase dans une nouvelle région endémique à l'Est de la province de Chantung. Un rapport à préliminaire sur l'utilisation du test intradermique dans une étude épidémiologique.
Chinese Méd. J., dec. 1964, 83, 812-818.

38 - MANDOUL (R.), SIGALAS (R.) et MOURGUES (R.)

Une épidémie massive de distomatose hépatique aux confins du Lot et du Lot-et-Garonne.
Journ. de Méd. de Bx et du Sud-Ouest, juillet 1958, 135° an., N° 27, 665-672.

39 - MARKELL (E.K.)

Découvertes du Laboratoire dans la clonorchiase chronique.
Am. J. Trop. Méd. Hyg., juil. 1966, 15, 510-515.

40 - MONNIER (J.) et VIBES (J.)

Une parasitose d'actualité : la distomatose hépatique. Aspects épidémiologiques. Place de l'éducation sanitaire.
L'Evolution Médicale, 1969, 13, 27.

41 - MORETTI (G.)

La distomatose hépatique.
Maroc Médical, 1959, 404, 218.

42 - MORETTI (G.) et BERTRAND (F.)

Nouvelles réflexions sur les relations unissant éosinophilies sanguines et parasitoses.
La Presse Médicale, 26 Janvier 1963, n° 4, 186-188.

43 - PACHECO (G.) WYKOFF (D.E.) et JUNG (R.C.)

Expérimentation d'un test d'hémoagglutination indirecte pour le diagnostic des infections à "clonorchis sinensis"
Am. J. Trop. Méd., juil. 1960, 9, 367-370.

44 - PAUTRIZEL (R.), BALLENGER (J.) et CALLAU (M.)

La distomatose. Diagnostic sérologique.
Rev. Hyg. et Méd. soc., 1960, 8, 618-631.

45 - PAUTRIZEL (R.), BALLENGER (J.), DURET (J.) et TRIBOULEY (J.)

Utilisation d'un antigène distomien délipidé dans le diagnostic de la distomatose à Fasciola hepatica.
Rev. Immunol., av. juin, 1962, 26, 167-174.

46 - PAUTRIZEL (R.), BAILENGER (J.) et GOUT (J.)

Diagnostic immunologique de la distomatose à Fasciola hepatica.
Annales de Biologie clinique, mars-avril 1961, N° 3, 4, 1-9.

47 - SADUN (E.H.) et BUCK (A.A.)

Le paragominiatis en Corée du Sud. Etude immunologique, épidémiologique, clinique, radiologique et thérapeutique.
Ann. J. Trop. Méd., nov. 1960, 9, 562-599.

48 - SAWADA (T.), NAGATA (Y.), TAKEI (K.), et SATO (S.)

Etudes de la substance en cause pour les tests cutanés dans la clonorchiase.
Japan J. Exper. Méd., déc. 1964, 34, 315-322.

49 - SUN (T.) et GIBSON (J.B.)

Les antigènes de Clonorchis sinensis dans les infections humaines expérimentales. Analyse par la technique de diffusion sur gel.
Am. J. Trop. Méd. Hyg., mars 1969, 18, 241-252.

50 - YOGORE (M.G.), LEWERT (R.M.) et MADROSO (E.D.)

Etudes de l'immuno-diffusion dans la paragominiase.
Am. J. Trop. Méd., juil. 1965, 14, 586-591.

51 - YOKOGAWA (M.) et coll.

Etude concernant l'utilisation de la méthode de fixation du complément dans la paragominase comme critère de cure.
Japan J. Parasit., 1962, 11, 117.

Vu et Permis d'imprimer

Toulouse, le 23 Septembre 1970

LE PRESIDENT DE L'UNIVERSITE

L. LARENG